

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. Dezember 2003 (04.12.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/099407 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **B01D**
(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP03/05501**
(22) Internationales Anmeldedatum:
26. Mai 2003 (26.05.2003)
(25) Einreichungssprache: **Deutsch**
(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**
(30) Angaben zur Priorität:
102 23 137.0 24. Mai 2002 (24.05.2002) **DE**
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN**

FORSCHUNG E.V. [DE/DE]; Hansastrasse 27c, 80686 München (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **WAGLER, Patrick** [DE/DE]; Flotgstrasse 40, 56154 Boppard (DE). **MC-CASKILL, John, Simpson** [AU/DE]; Heidebergenstrasse 45, 53229 Bonn (DE). **FOSTER, Tobias** [DE/DE]; Paul-Schallück-Strasse 21, 50939 Köln (DE).

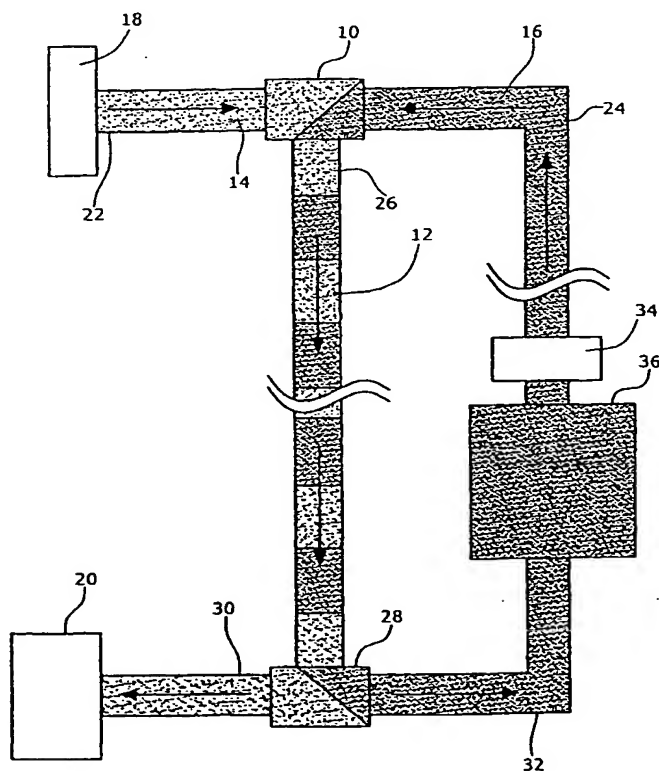
(74) Anwälte: **HILLERINGMANN, Jochen** usw.; Bahnhofsvorplatz 1, Deichmannhaus, 50667 Köln (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR TRANSFERRING HETEROGENEOUS LIQUIDS IN MICROCHANNELS WITHOUT THE OCCURRENCE OF MIXING

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM MISCHUNGSFREIEN ÜBERTRAGEN VON HETEROGENEN FLÜSSIGKEITEN IN MIKROKANÄLEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for transferring heterogeneous liquids in microchannels without the occurrence of mixing, according to which a heterogeneous liquid flow (14) is autonomously portioned, conveyed over a distance and is then autonomously recombined. During portioning, individual volumes of a second liquid (16), which can be completely but not necessarily homogeneous, are introduced between successive partial volumes of the heterogeneous liquid flow (14). Without these measures, partial volumes of the heterogeneous liquid (14) that are in contact with one another would mix together. Therefore, by separating the individual partial volumes, the invention now enables these partial volumes, thus the heterogeneous liquid (14), to be conveyed over long distances without the occurrence of mixing. In order to process the partial volumes of the heterogeneous liquid (14), it is then necessary again to separate the liquid flow (12) from alternately successive partial volumes of both liquids (14, 16) so that two flows are formed again of which one flow is the same as the heterogeneous starting liquid and the other is the same as the second liquid. An overall solution for the conveyance of a heterogeneous liquid without the occurrence of mixing and without the use of expensive fractionators is made possible by virtue of the fact that both processes can autonomously proceed by a self-organization of the phases.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 03/099407 A2





GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) **Zusammenfassung:** Bei dem Verfahren zum mischungsfreien Übertragen von heterogenen Flüssigkeiten in Mikrokanälen wird ein heterogener Flüssigkeitsstrom autonom portioniert, über eine Strecke transportiert und anschließend autonom wieder zusammengefügt. Bei der Portionierung werden zwischen hintereinander liegenden Teilvolumina des heterogenen Flüssigkeitsstroms einzelne Volumina einer zweiten Flüssigkeit, die durchaus homogen sein kann, aber nicht sein muss, eingebracht. Während sich die dicht aneinander liegenden Teilvolumina der heterogenen Flüssigkeit ohne diese Maßnahme untereinander vermischen würden, kann nun durch die Trennung der einzelnen Teilvolumina erreicht werden, dass diese Teilvolumina und damit die heterogene Flüssigkeit über weite Strecken transportiert werden können, ohne dass es zu einer Vermischung kommt. Zur Bearbeitung der Teilvolumina der heterogenen Flüssigkeit bedarf es dann wieder einer Separierung des Flüssigkeitsstroms aus alternierend aufeinander folgenden Teilvolumina der beiden Flüssigkeiten, so dass wiederum zwei Ströme entstehen, von denen die eine Strömung gleich der heterogenen Ausgangsflüssigkeit und die andere gleich der zweiten Flüssigkeit ist. Da beide Vorgänge durch Selbstorganisation der Phasen autonom ablaufen können, wird eine Gesamtlösung für den mischungsfreien Transport einer heterogenen Flüssigkeit ohne kostspielige Fraktionatorgeräte ermöglicht.

**Verfahren zum mischungsfreien Übertragen von heterogenen
Flüssigkeiten in Mikrokanälen**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum mischungsfreien Übertragen von heterogenen Flüssigkeiten in Mikrokanälen. Insbesondere betrifft die Erfindung den mischungsfreien Transport einer heterogenen Flüssigkeit zwischen zwei Orten in einem Kanalsystem.

5

Technisches Anwendungsgebiet

Heterogene Flüssigkeiten, d.h. Flüssigkeiten, die Konzentrationsgradienten von Molekülen oder Mikropartikel (z.B. Beads) enthalten, werden in einer Vielfalt von synthetischen und analytischen Aufgaben in der Chemie gebildet. Vor allem in Verbindung mit Flussreaktoren oder Trennverfahren wie Chromatographie und Gel-Elektrophorese (PAGE) in der Biotechnologie, aber auch in der kombinatorischen Chemie oder in "Lab on a Chip"-Anwendungen, müssen heterogene Lösungen mischungsfrei von ihrem Entstehungsort zum Ort ihrer Weiterverarbeitung (z. B. Analyse, Fraktionierung oder anderer Verarbeitungsschritte) weitergeleitet werden.

10

15

Stand der Technik

Die bei konventionellen Analyseverfahren wie Chromatographie oder Elektrophorese erzeugten heterogen fraktionierten Lösungen leiden beim Transport innerhalb von Kapillarsystemen unter einer starken Längsvermischung, die deren Auflösung stark verringert. Der Grund dafür ist die Ausbildung des bekannten parabolischen Geschwindigkeitsprofils, welches bewirkt, dass sich die Strömung in der Mitte des Kanals bzw. der Kapillare schneller als am Rand bewegt. In der Folge verursacht eine laterale Diffusion über kurzer Entfernungen

20

25

- 2 -

in der Strömung die Längsmischung (G. Taylor Convektion Ref „Dispersion of soluble matter in solvent flowing slowly through a tube“ Proc. Roy. Soc. London 219A (1953) 186-203). Eine Verkleinerung des Rohrdurchmessers verringert zwar die Gesamtdurchmischung, erhöht jedoch den hydrodynamischen Widerstand und verursacht größere Probleme durch Wandeffekte und Adsorption. Neuere Forschungen zeigen, dass eine gezielte Lateralmischung, die durch mikrostrukturierte Komponenten hervorgerufen wird, diesen Effekt etwas vermindert (Ref M.J.Clifton „Continuous flow electrophoresis in the Taylor regime.“ J.Chromatography A 757 (1997) 193-202). Diese sogenannte "Taylor-Dispersion" und die Wandadsorption bleibt jedoch für eine stetige einphasige Probenführung in Kapillaren limitierend.

Spontane Phasentrennungen von miteinander nicht mischbaren Flüssigkeiten sind bekannt (Ref: K.-V. Schubert und E.W. Kaler „Nonionic microemulsions“ Ber. Bunsengesellschaft 100 (1996) 190-205). So bilden beispielsweise Öl und Wasser im Gleichgewichtszustand zweiphasige Systeme. Die Erzeugung von Tropfen aus nicht mischbaren Phasen innerhalb von Mikrokanälen ist ebenfalls untersucht worden. Dagegen ist der Einsatz von Tropfen aus nicht mischbaren Phasen für den mischungsfreien Transport von Mikroprobenvolumina bisher nicht beschrieben worden. Des weiteren ist die Steuerung der Bildung von Nicht-Gleichgewichtsphasen durch Oberflächen-, Geometrie- und Fließgeschwindigkeitseffekte noch wenig erforscht (Ref: L.M. Grant und W.A. Ducker „Effect of Substrate Hydrophobicity on Surface-Aggregate Geometry“ J. Phys. Chem. B101 (1997) 5337-5345. Oberflächenbeschaffenheiten wie z.B. hydrophobe bzw. hydrophile Eigenschaften werden verwendet, um Tropfen gezielt auf offenen Oberflächen zu positionieren und an definierten Orten zu halten (z.B. in Wasser-Luft Systemen). Die Bildung von Tropfenketten in Luft-Wasser Systemen und Öl-Wasser Systemen ist bekannt (Ref: "Droplet formation in a microchannel network" Takasi Nisisako, Toru Torii, Toshiro Higuchi Lab on a Chip, Vol. 2, No. 1 (2002) und „Dynamic Pattern Formation in a Vesicle-Generating Microfluidic Device“ Todd Thorsen, Richard W. Roberts, Frances H. Arnold and Stephen R. Quake Physical Review Letters, Vol. 86, No. 18 (2001)), aber nicht deren Verwendung in Verbindung mit autonomer Wiederauftren-

nung der Tropfen zum gezielten Transport von heterogenen Proben. Wasser-Luft-Systeme haben zudem den Nachteil, dass sie unter sich ändernden Druckverhältnissen ausdehnbar und nicht präzise steuerbar sind.

5 Mit der Erfindung gelöste Aufgaben

Die Erfindung beschreibt ein Gerät und ein Verfahren zur "digitalen" Kodierung und Dekodierung von heterogenen Flüssigkeiten in diskrete Tropfen, ermöglicht durch mischungsfreien Transport innerhalb Kapillaren bzw. Mikrokanälen.

10

Lösung

Zur Lösung dieser Aufgabe wird mit der Erfindung ein Verfahren zum mischungsfreien Übertragen einer heterogenen Flüssigkeit, das heißt einer Flüssigkeit, die in Strömungsrichtung betrachtet eine nicht homogene Konzentration aufweist, in Mikrokanälen, wobei bei dem Verfahren

15

- eine erste heterogene Flüssigkeit durch einen ersten Kanal strömt und an einer ersten Verbindungsstelle mit einem zweiten Kanal mit einer durch diesen strömenden zweiten Flüssigkeit (nachfolgend auch Trennflüssigkeit genannt), wobei diese zweite Flüssigkeit homogen oder inhomogen sein kann) zusammentrifft, wobei die beiden Flüssigkeiten so gewählt werden, dass sie zusammen, das heißt miteinander, eine Phasentrennung bewirken,
- die beiden Flüssigkeiten an der Verbindungsstelle durch Bildung von stabilen oder metastabilen Nicht-Gleichgewichtsphasen insbesondere aufgrund von Oberflächenbelegungen, Geometrien und/oder Fließgeschwindigkeiten in eine zweiphasige Strömung (nachfolgend Tropfenkette genannt) aus alternierend aufeinander folgenden Teilvolumina der ersten und der zweiten Flüssigkeit umgesetzt werden und diese zweiphasige Strömung durch einen von der ersten Verbindungsstelle des ersten Kanals mit dem zweiten Kanal ausgehenden Übertragungskanal fließt, und
- die zweiphasige Strömung nach ihrer Übertragung an einer weiteren Verbindungsstelle des Übertragungskanals mit einem dritten und einem

20

25

30

- 4 -

vierten Kanal insbesondere aufgrund von Oberflächenbelegungen, Geometrie und/oder Fließgeschwindigkeiten in die Flüssigkeitsströmungen vor der Auftrennung spontan in den dritten und den vierten Kanal aufgetrennt werden.

5

Nach der Erfindung wird also ein heterogener Flüssigkeitsstrom portioniert, indem zwischen hintereinander liegenden Teilvolumina des heterogenen Flüssigkeitsstroms einzelne Volumina einer zweiten Flüssigkeit, die durchaus homogen sein kann, aber nicht sein muss, eingebracht werden. Während sich
10 die dicht aneinander liegenden Teilvolumina der heterogenen Flüssigkeit ohne diese Maßnahme untereinander vermischen würden, kann nun durch die Trennung der einzelnen Teilvolumina erreicht werden, dass diese Teilvolumina und damit die heterogene Flüssigkeit über weite Strecken transportiert werden können, ohne dass es zu einer Vermischung kommt. Zur Bearbeitung der
15 Teilvolumina der heterogenen Flüssigkeit bedarf es dann wieder einer Separierung des Flüssigkeitsstroms aus alternierend aufeinander folgenden Teilvolumina der beiden Flüssigkeiten, so dass wiederum zwei Ströme entstehen, von denen die eine Strömung gleich der heterogenen Ausgangsflüssigkeit und die andere gleich der zweiten Flüssigkeit ist. Da beide Vorgänge durch
20 Selbstorganisation der Phasen autonom ablaufen können, wird eine Gesamtlösung für den mischungsfreien Transport einer heterogenen Flüssigkeit ohne kostspielige Fraktionatorgeräte ermöglicht.

Die Vereinigung der beiden Flüssigkeitsströme sowie die Auftrennung des
25 Gesamtstromes in die beiden Flüssigkeitsströme erfolgt an Verbindungsstellen, an denen die jeweilige Kanäle zusammentreffen. An diesen Verbindungsstellen können Kammern ausgebildet sein.

Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen
30 angegeben.

Grundzüge des Lösungsweges

Die nachfolgenden Unterpunkte 1 - 3 beschreiben ein Gerät zum mischungs-
freien Transport heterogener Flüssigkeiten in Kapillaren oder Mikrokanälen mit
5 charakteristischen Querschnitt-Strukturgrößen (Breite, Tiefe) zwischen 1 μm
und 5 mm durch eine autonome "inline" Erzeugung und Wiederauftrennung
alternierender Tropfenketten mittels einer zweiten mit der Ausgangslösung
nicht mischbaren Flüssigkeit.

10 1. Definierte Tropfenbildung durch kinetische Selbstorganisation und -erzeugung

Eine zweite mit der ersten Phase nicht mischbaren und wenig ausdehnbaren
Flüssigkeit wird ausgewählt. Die beiden Flüssigkeiten sollten sich bezüglich
15 ihres Kontaktwinkels zur Kanalwand deutlich unterscheiden. Die heterogenen
Bestandteile der ersten Flüssigkeit dürfen nicht in der zweiten Phase
(Trennflüssigkeit) löslich sein. Für eine wässrige Lösung von Biopolymeren
stellen z.B. Öle eine geeignete Wahl dar. Die Bildung alternierender Fluidpha-
sen (wie z.B. Öl-/Lipid- und Wassertropfen) mit oder ohne die Oberflächen-
20 spannung beeinflussenden Zusätzen aus zwei oder mehr nicht mischbaren
Fluiden im kontinuierlichen Fluss wird an der Begegnungsstelle zweier oder
mehrerer sich treffender Kapillaren (Durchmesser: 5-5000 μ) oder Mikroka-
nalstrukturen (Strukturbreite: 1-5000 μm , Strukturhöhe: 1-5000 μm) gesteu-
ert. Das Prinzip des Verfahrens ist in der Zeichnung dargestellt.

25

Die Tropfenbildung ist ein kinetischer Vorgang, der zu einem Nicht-Gleichge-
wichtszustand führt. Die Tropfenlänge (meistens größer als der Kanaldurch-
messer) und damit die Tropfenvolumina (fl- μl) sind abhängig vom Volumen
der Begegnungskammer bzw. Ihres Begegnungs-, Kreuzungs- bzw. Treff-
30 punkts. Weitere Einflussgrößen sind: die Wahl der zweiten Phase (s.o.), die
Geometrie der Begegnungskammer, die Benetzungseigenschaften der

Wände/Kapillaroberflächen sowie die Auswahl verschiedener Flussraten. Das Ausführungsbeispiel zeigt detaillierte Werte für zwei verschiedenen Fälle.

2. Autonome Auftrennung alternierender Tropfenketten

5

Die autonome Auftrennung alternierender Fluidphasen (wie z.B. Öl- und Wassertropfen) unter Flussbedingungen wird durch sich teilende Kapillaren (Durchmesser: 5-5000 μm) oder Mikrokanalstrukturen (Strukturbreite: 1-5000 μm , Strukturhöhe: 1-5000 μm) gesteuert. Die unterschiedlichen Benetzungseigenschaften der Flüssigkeiten führen dazu, dass in dem Ableitungskanal mit hydrophilen Oberflächeneigenschaften die wässrige Phase und in dem Ableitungskanal mit hydrophoben Oberflächeneigenschaften die ölige Phase (Trennflüssigkeit) abgeleitet wird. Zusätzlich sollte das Volumen der Trennkammer bezogen auf das Volumen der Tropfen entsprechend klein sein. Die beiden Flüssigkeiten werden dann in den zwei Ableitungskanälen (oder Kapillaren) im Fluss mit derselben Geschwindigkeit wie in Punkt 1 sauber getrennt. Exakte Bedingungen hierfür sind für eine bevorzugte Ausgestaltung der Erfindung im Ausführungsbeispiel angegeben.

3. Kombination der Punkte 2 und 1 unter Rückgewinnung der eingesetzten Trennphase

Ein komplettes Transfergerät erfordert den Einsatz eines Reservoirs für die Trennphasenflüssigkeit (z.B. Öl/Lipid) und eine Pumpe um die Flüssigkeit aus diesem Reservoir zu fördern. Um den Verbrauch an eingesetzter Trennphasenflüssigkeit gering zu halten kann die zweite Phase zurückgewonnen werden. Die Trennphase wird mit einem Pumpensystem der Bildungsprozedur (Punkt 1) erneut zugeführt, so dass das System einen geschlossenen Kreislauf bildet.

Erzeugte Verbesserungen und Vorteile gegenüber Stand der Technik

Der in Tropfen aufgeteilte Transport von heterogenen Molekülproben (insbesondere in der wässrigen Phase), kann ohne eine Durchmischung der

- 7 -

Moleküle (verhindert durch die Trennphase, z.B. Öltropfen) erfolgen, sofern die Moleküle nicht in der zweiten Phase löslich sind. Durch den Einsatz von mobilen Tropfen können heterogene Proben somit verteilt und über größere Strecken (z. B. mehrere Meter) ohne Vermischung weitergeleitet werden. Auf
5 diese Weise könnten derart separierte Proben zu einem nachfolgenden Syntheseschritt oder einer weiteren Analyse transportiert werden. Auch bei Suspensionen von Mikro-/Nanopartikeln können Tropfen mit definierten Mengen von Partikeln (Beads) erzeugt und an die gewünschten Reaktions- bzw. Analyseorte gefördert werden. Vorteil: Verbesserung der Reproduzierbar-
10 keit von Analysen/Diagnostikprozeduren.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung wird nachfolgend anhand eines in der Zeichnung dargestellten
15 Ausführungsbeispiels näher erläutert.

Zwei Flüssigkeiten in den entsprechenden Eingangskanälen/-kapillaren treffen sich in einer Begegnungskammer 10 und erzeugen autonom eine Tropfenkette 12. In dem Beispiel sind, als nicht untereinander mischbare Flüssigkeiten, eine
20 heterogene wässrige Lösung 14 und eine Öl/Lipid-Phase 16 dargestellt. Es können aber auch andere nicht mischbare Phasen verwendet werden.

Bei der heterogenen wässrigen Lösung 14 handelt es sich beispielsweise um einzelne hintereinander liegende Probenvolumina, die in einer Probenaufbear-
25 beitungseinheit 18 erzeugt und strömungsmäßig hintereinander geschaltet werden. Diese heterogene wässrige Lösung soll nun zu einem relativ weit vom Entstehungsort entfernt angeordneten Ort transportiert werden, an dem sie weiter verarbeitet wird (beispielsweise analysiert, fraktioniert oder anderen Verarbeitungsschritten unterzogen wird). Diese Ort ist in der Zeichnung allge-
30 mein als Verarbeitungsort 20 dargestellt. Die Problematik besteht nun darin, dass die einzelnen Probenvolumina dann, wenn die heterogene wässrige Lösung über eine längere Strecke transportiert wird, untereinander vermischen

können, wohingegen der Transport über eine relativ kurze Strecke (beispielsweise bis zu 1 cm) noch keine störenden Vermischungen verursacht. Daher wird ausgehend von der Einheit 18 die heterogene wässrige Lösung über einen kurzen Kanal 22 bis zur Begegnungskammer 10 transportiert. In
5 diese Begegnungskammer 10 kommt über einen Kanal 24 die Öl/Lipid-Phase 16 hinzu.

In der Begegnungskammer 10 kommt es nun aufgrund der oben beschriebenen Mechanismen (siehe in diesem Zusammenhang auch die oben angegebenen
10 Zitate) zu einer spontanen Phasentrennung der beiden Strömungen und damit zur Tropfenkette 12 in einem sich von der Begegnungskammer 10 aus erstreckenden Kanal 26. Diese Tropfenkette 12 besteht aus wechselweise hintereinander liegenden Teilvolumina der heterogenen wässrigen Lösung 14 und der Öl/Lipid-Phase 16. Die Aufteilung erfolgt in der Begegnungskammer
15 10 dergestalt, dass die einzelnen Probenvolumina der wässrigen Lösung 14 nunmehr durch Öl/Lipid-Phasen-Volumina voneinander getrennt sind. Damit kommt es jetzt im Kanal 26 nicht zu einer Vermischung der Probenvolumina.

Um die Probenvolumina nun in der Einheit 20 weiterverarbeiten zu können,
20 bedarf es einer Wiedervereinigung der einzelnen Probenvolumina zu einem wiederum heterogenen wässrigen Lösungsstrom. Zu diesem Zweck erfolgt eine Auftrennung der Tropfenkette 12 in einer Auftrennkammer 28, in die der Kanal 26 einmündet. Über einen ersten Ausgangskanal 30 strömt dann die heterogene wässrige Lösung 14, bestehend aus den einzelnen unmittelbar hintereinander
25 liegenden Probenvolumina, während aus einem zweiten Ausgangskanal 32 die Öl/Lipid-Phase 16 austritt. Dieser zweite Ausgangskanal 32 kann über eine Pumpe 34 mit dem ersten Kanal 24 zur Bildung eines Zirkulationssystems für die Öl/Lipid-Phase verbunden sein. In diesen Zirkulationskreislauf kann noch ein Reservoir 36 geschaltet sein. Die Pumpe (34) wird zum einen benö-
30 tigt, um den Stoffkreislauf zu ermöglichen und zum anderen, um die Transportgeschwindigkeit zu regeln.

Tropfenerzeugung (in Bewegungskammer 10)

Die Bildung kleinster Tropfen wird durch die Kombination von niedrigen Fließgeschwindigkeiten (Größenordnung $< 1 \mu\text{l}/\text{min}$) und kleiner Volumina des Kreuzungspunktes (Größenordnungen einiger nl) erreicht. Bei höheren Flussraten (Größenordnung $> 0,05 \text{ ml}/\text{min}$) nutzt man einen "Nozzle-Effekt" der bei der Einleitung von Öl/Lipid in die Strömung einer wässrigen Phase auftritt.

(i) Niedrige Flussraten:

10

In einem T-Stück (Wandmaterial unbehandeltes Silizium; Kanalbreite $300 \mu\text{m}$; Kanaltiefe $50 \mu\text{m}$, Volumen der Begegnungskammer 5 nl) werden Wasser und Öl zusammengeführt, wie in der Zeichnung dargestellt. Wenn das Begegnungsvolumen mit einer der beiden Flüssigkeiten gefüllt wird und dann identische Flussraten beider Flüssigkeiten eingestellt werden, fließen Wasser und Öl abwechselnd in das Begegnungsvolumen, sofern die Flussraten unter $1 \mu\text{l}/\text{min}$ liegen. Im abfließenden Kanal lassen sich daher Ketten alternierender Tropfen der beiden Flüssigkeiten mit einem Tropfenvolumen von 100 nl beobachten. Skaliert man das Volumen der gebildeten Tropfen auf das Volumen der Begegnungskammer, lässt sich die Kanalbreite eines T-Stücks (Kanaltiefe wieder $50 \mu\text{m}$), in dem Tropfen des Volumens von 500 pl erzeugt werden, auf etwa $5 \mu\text{m}$ reduzieren.

20

(ii) Hohe Flussraten:

25

An ein Y-Stück (hydrophiles Wandmaterial, z.B. Glas; Leitungsdurchmesser $200 \mu\text{m}$; Länge der Leitungen vom Kreuzungspunkt aus: 8 mm) werden über einen Siliconschlauch (hydrophob, Innendurchmesser $500 \mu\text{m}$) Polyethylenschläuche (Innendurchmesser $400 \mu\text{m}$) angeschlossen. Durch zwei der Schläuche werden Wasser und Öl in das Y-Stück überführt. Bei einer konstanten Flussrate des Wassers von $0.05 \text{ ml}/\text{min}$ fließt Öl bei Flussraten oberhalb von $0.2 \text{ ml}/\text{min}$ durch die Begegnungskammer, ohne die hydrophilen Glaswände des Y-Stücks zu berühren. Das Wasser fließt zwischen Öl und Glaswand in die

30

- 10 -

abführende Leitung. Die Bildung der Tropfen erfolgt an dem Übergang des Glas-Y-Stücks auf den Siliconschlauch durch einen "Nozzle-Effekt" und wird durch den Wechsel der Benetzungseigenschaften der Wände begünstigt. Die Wassertropfen haben ein Volumen von 90 nl, die Öltropfen bei einer Flussrate von 0.2 ml/min ein Volumen von 300 µl.

Wiederauftrennung (in Auftrennkammer 28)

In ein T-Stück (eine der Ableitungen hat hydrophile, die gegenüberliegende hat hydrophobe Wände; Kanalbreite 10 µm, Kanaltiefe 50 µm; Volumen der Begegnungskammer 5 pl) wird eine Kette alternierender Tropfen von Wasser und Öl (Tropfenvolumen 1 nl) mit Flussraten unterhalb von 0.1 µl/min geleitet. Die Kette alternierender Tropfen wird in einen Öl- und einen Wasserstrom getrennt, die durch die hydrophobe bzw. die hydrophile Leitung abfließen.

Transportsystem

Die beiden Systemkomponenten (Tropfenerzeugung/Wiederauftrennung) lassen sich, wie in der Zeichnung dargestellt, für den Transport heterogener Flüssigkeiten in einem geschlossenen System kombinieren. Bei vielen Analyseverfahren (z.B. Chromatographie) werden Proben aufgetrennt und heterogene Lösungen erzeugt, wie sie auch bei kinetischen Prozessen in Flussreaktoren entstehen. Die vorhandenen Konzentrationsgradienten am Ausgang des Messgeräts bzw. des Reaktors können mit dem beschriebenen Verfahren zur Tropfenbildung in kleinen Mikroprobenvolumina aufgetrennt werden und dann als Tropfenkette mischungsfrei über lange Strecken zur weiteren Verarbeitung transportiert werden. Dort oder nach dem Verarbeitungsschritt können die Tropfenketten wieder zusammengeführt bzw. in ihre Phasen aufgetrennt werden.

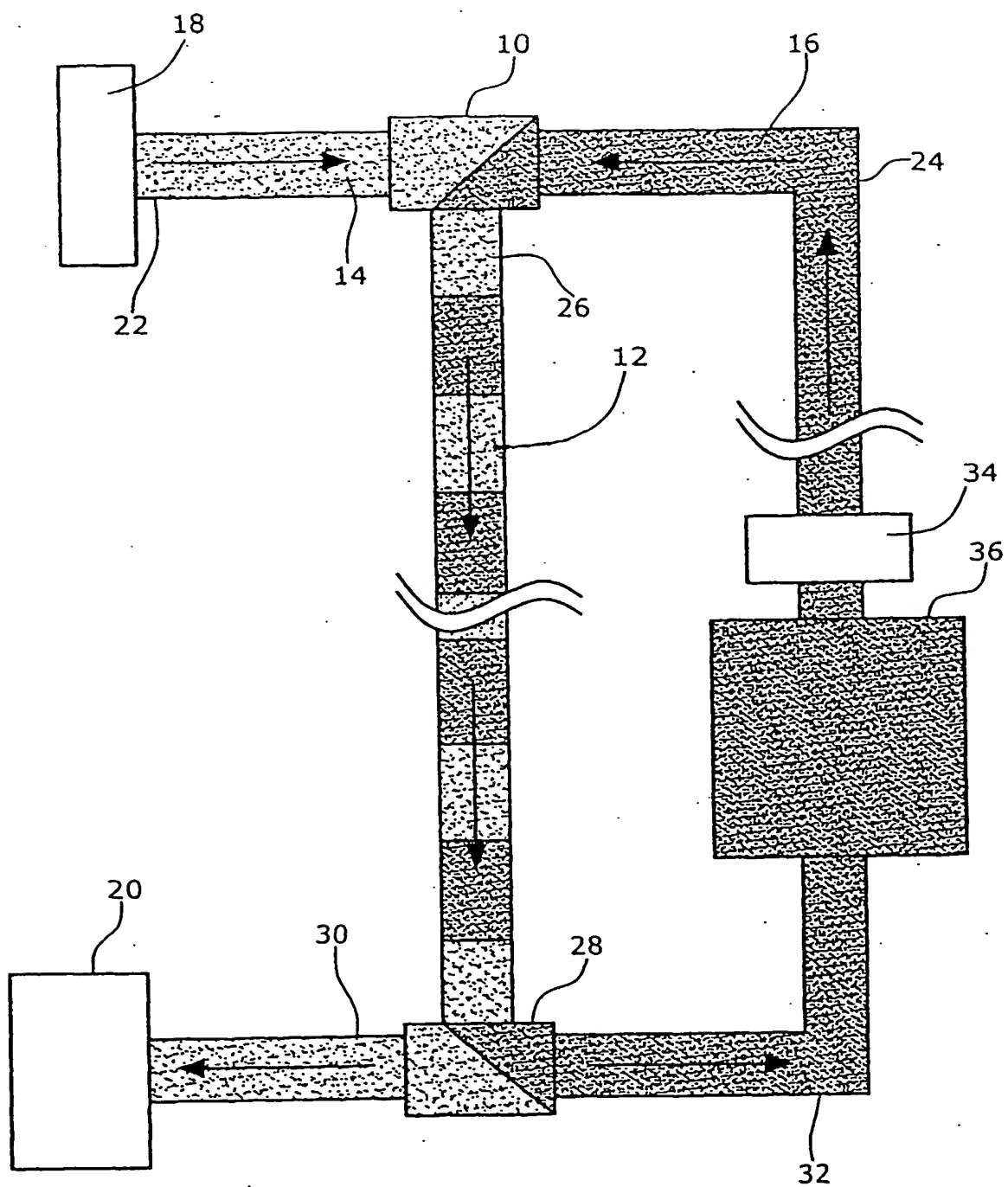
ANSPRÜCHE

1. Verfahren zum mischungsfreien Übertragen von einer heterogenen Flüssigkeit in Mikrokanälen, bei dem
 - eine erste heterogene Flüssigkeit (14) durch einen ersten Kanal (22) strömt und an einer ersten Verbindungsstelle (Begegnungskammer 10) mit einem zweiten Kanal (24) mit einer durch diesen strömenden zweiten Flüssigkeit (16) zusammentrifft, wobei die beiden Flüssigkeiten (14,16) so gewählt werden, dass sie miteinander eine Phasentrennung bewirken,
 - die erste und zweite Flüssigkeiten (14,16) an der Verbindungsstelle (Begegnungskammer 10) durch Bildung von Nicht-Gleichgewichtsphasen insbesondere auf Grund von Oberflächenbelegung, Geometrie und/oder Fließgeschwindigkeitseffekten in eine zweiphasige Strömung (Tropfenkette 12) aus alternierend aufeinander folgenden Teilvolumina der ersten und der zweiten Flüssigkeit (14,16) umgesetzt werden und diese zweiphasige Strömung (Tropfenkette 12) durch einen von der Verbindungsstelle (Begegnungskammer 10) des ersten Kanals (14) mit dem zweiten Kanal (24) ausgehenden Übertragungskanal (26) fließt, und
 - die zweiphasige Strömung (Tropfenkette 12) nach dieser Übertragung an einer weiteren Verbindungsstelle (Auftrennkammer (28)) des Übertragungskanals (26) mit einem dritten und einem vierten Kanal (30,32) insbesondere auf Grund von Oberflächenbelegungen, Geometrie und/oder Fließgeschwindigkeiten in die Flüssigkeitsströmungen vor der Auftrennung spontan in den dritten und den vierten Kanal (30,32) aufgetrennt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine der heterogenen Flüssigkeiten Mikroteilchen, wie z.B. Beads aufweist.
3. Verwendung des Verfahrens nach Anspruch 1 oder 2 in der Chromatographie, insbesondere zur Protein-Reinigung, oder in anderen (chemischen) Trennverfahren.

- 12 -

4. Verwendung des Verfahrens nach Anspruch 1 oder 2 zum Transport von heterogenen Mikroteilchen-Verteilungen, insbesondere von Verteilungen von Beads, in mindestens einer der Flüssigkeiten.

- 1/1 -



THIS PAGE BLANK (USPTO)

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. Dezember 2003 (04.12.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2003/099407 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **B01J 19/00**,
B01L 3/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/005501

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. Mai 2003 (26.05.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 23 137.0 24. Mai 2002 (24.05.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.** [DE/DE]; Hansastrasse 27c, 80686 München (DE).

(72) Erfinder; und

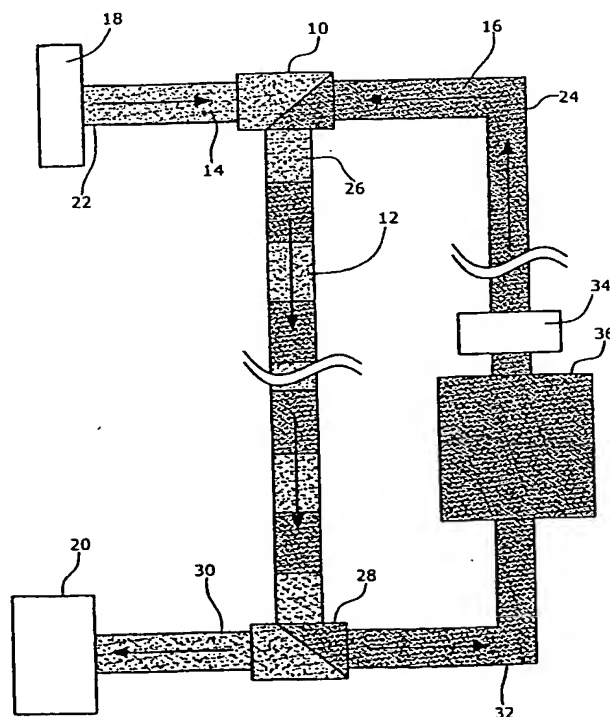
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **WAGLER, Patrick** [DE/DE]; Flogtstrasse 40, 56154 Boppard (DE). **MC-CASKILL, John, Simpson** [AU/DE]; Heidebergenstrasse 45, 53229 Bonn (DE). **FOSTER, Tobias** [DE/DE]; Paul-Schallück-Strasse 21, 50939 Köln (DE).

(74) Anwälte: **HILLERINGMANN, Jochen** usw.; Bahnhofsvorplatz 1, Deichmannhaus, 50667 Köln (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR TRANSFERRING HETEROGENEOUS LIQUIDS IN MICROCHANNELS WITHOUT THE OCCURRENCE OF MIXING

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM MISCHUNGSFREIEN ÜBERTRAGEN VON HETEROGENEN FLÜSSIGKEITEN IN MIKROKANÄLEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for transferring heterogeneous liquids in microchannels without the occurrence of mixing, according to which a heterogeneous liquid flow (14) is autonomously portioned, conveyed over a distance and is then autonomously recombined. During portioning, individual volumes of a second liquid (16), which can be completely but not necessarily homogeneous, are introduced between successive partial volumes of the heterogeneous liquid flow (14). Without these measures, partial volumes of the heterogeneous liquid (14) that are in contact with one another would mix together. Therefore, by separating the individual partial volumes, the invention now enables these partial volumes, thus the heterogeneous liquid (14), to be conveyed over long distances without the occurrence of mixing. In order to process the partial volumes of the heterogeneous liquid (14), it is then necessary again to separate the liquid flow (12) from alternately successive partial volumes of both liquids (14, 16) so that two flows are formed again of which one flow is the same as the heterogeneous starting liquid and the other is the same as the second liquid. An overall solution for the conveyance of a heterogeneous liquid without the occurrence of mixing and without the use of expensive fractionators is made possible by virtue of the fact that both processes can autonomously proceed by a self-organization of the phases.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2003/099407 A3



(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen**

Recherchenberichts:

21. Mai 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) **Zusammenfassung:** Bei dem Verfahren zum mischungsfreien Übertragen von heterogenen Flüssigkeiten in Mikrokanälen wird ein heterogener Flüssigkeitsstrom autonom portioniert, über eine Strecke transportiert und anschließend autonom wieder zusammengefügt. Bei der Portionierung werden zwischen hintereinander liegenden Teilvolumina des heterogenen Flüssigkeitsstroms einzelne Volumina einer zweiten Flüssigkeit, die durchaus homogen sein kann, aber nicht sein muss, eingebracht. Während sich die dicht aneinander liegenden Teilvolumina der heterogenen Flüssigkeit ohne diese Maßnahme untereinander vermischen würden, kann nun durch die Trennung der einzelnen Teilvolumina erreicht werden, dass diese Teilvolumina und damit die heterogene Flüssigkeit über weite Strecken transportiert werden können, ohne dass es zu einer Vermischung kommt. Zur Bearbeitung der Teilvolumina der heterogenen Flüssigkeit bedarf es dann wieder einer Separierung des Flüssigkeitsstroms aus alternierend aufeinander folgenden Teilvolumina der beiden Flüssigkeiten, so dass wiederum zwei Ströme entstehen, von denen die eine Strömung gleich der heterogenen Ausgangsflüssigkeit und die andere gleich der zweiten Flüssigkeit ist. Da beide Vorgänge durch Selbstorganisation der Phasen autonom ablaufen können, wird eine Gesamtlösung für den mischungsfreien Transport einer heterogenen Flüssigkeit ohne kostspielige Fraktionatorgeräte ermöglicht.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/05501

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01J19/00 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 B01J B01L G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01 12327 A (UT BATTELLE LLC ; JACOBSON STEPHEN C (US); RAMSEY J MICHAEL (US)) 22 February 2001 (2001-02-22) page 9, line 13 - page 13, line 8 figures 2,3	1-4
X	US 4 028 056 A (OBERHARDT BRUCE J ET AL) 7 June 1977 (1977-06-07) the whole document	1-4
X	US 4 399 102 A (KARLBERG BO I ET AL) 16 August 1983 (1983-08-16) the whole document	1
A	EP 0 815 940 A (CALIPER TECHN CORP) 7 January 1998 (1998-01-07) the whole document	1
-/-		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 November 2003

Date of mailing of the international search report

13/11/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Vlassis, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/05501

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 99 25475 A (GROMAKOVSKAJA ELENA ;MIETHE PETER (DE); PLAKSINE DIMITRI (DE)) 27 May 1999 (1999-05-27) page 7, line 32 -page 8, line 21 page 12, line 33 -page 14, line 7 claim 11; figures 11,12 -----</p>	1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/05501

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0112327	A	22-02-2001	US 6524456 B1	25-02-2003
			AU 7758600 A	13-03-2001
			CA 2380614 A1	22-02-2001
			CN 1378485 T	06-11-2002
			EP 1202802 A1	08-05-2002
			JP 2003507162 T	25-02-2003
			WO 0112327 A1	22-02-2001
US 4028056	A	07-06-1977	AU 501596 B2	21-06-1979
			AU 2403977 A	12-10-1978
			BE 851998 A1	02-09-1977
			CA 1086660 A1	30-09-1980
			CH 615835 A5	29-02-1980
			DE 2716880 A1	03-11-1977
			FR 2348730 A1	18-11-1977
			GB 1574502 A	10-09-1980
			IT 1072750 B	10-04-1985
			JP 52130061 A	01-11-1977
			NL 7702255 A	24-10-1977
			SE 423680 B	24-05-1982
			SE 7704535 A	21-10-1977
			SU 784742 A3	30-11-1980
US 4399102	A	16-08-1983	SE 414872 B	25-08-1980
			DE 2842864 A1	12-04-1979
			FR 2407728 A1	01-06-1979
			GB 2007524 A ,B	23-05-1979
			JP 1004149 B	24-01-1989
			JP 1518399 C	07-09-1989
			JP 54064077 A	23-05-1979
			SE 7711016 A	04-04-1979
			US 4546088 A	08-10-1985
EP 0815940	A	07-01-1998	US 5779868 A	14-07-1998
			US 5880071 A	09-03-1999
			AU 726987 B2	30-11-2000
			AU 3501297 A	21-01-1998
			BR 9710052 A	11-01-2000
			CA 2258481 A1	08-01-1998
			CN 1228841 A	15-09-1999
			EP 0815940 A2	07-01-1998
			EP 0909385 A1	21-04-1999
			JP 3361530 B2	07-01-2003
			JP 2000514184 T	24-10-2000
			KR 2000022177 A	25-04-2000
			NZ 333345 A	29-09-2000
			NZ 504697 A	30-11-2001
			NZ 504698 A	30-11-2001
			TW 394843 B	21-06-2000
			US 5972187 A	26-10-1999
			US 6080295 A	27-06-2000
			WO 9800705 A1	08-01-1998
			US 6042709 A	28-03-2000
			US 6547942 B1	15-04-2003
			US 2003085126 A1	08-05-2003
			US 6287520 B1	11-09-2001
			US 2002017464 A1	14-02-2002
			US 5958203 A	28-09-1999

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/05501

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0815940	A	ZA 9705758 A	23-04-1998
WO 9925475	A	27-05-1999	
		AT 216637 T	15-05-2002
		AU 1874099 A	07-06-1999
		AU 1962399 A	07-06-1999
		DE 59803938 D1	29-05-2002
		WO 9925475 A1	27-05-1999
		WO 9926071 A1	27-05-1999
		EP 1032471 A1	06-09-2000
		EP 1032840 A1	06-09-2000
		US 2003039588 A1	27-02-2003
		US 6488894 B1	03-12-2002

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/05501

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01J19/00 B01L3/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 B01J B01L G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 01 12327 A (UT BATTELLE LLC ; JACOBSON STEPHEN C (US); RAMSEY J MICHAEL (US)) 22. Februar 2001 (2001-02-22) Seite 9, Zeile 13 -Seite 13, Zeile 8 Abbildungen 2,3	1-4
X	US 4 028 056 A (OBERHARDT BRUCE J ET AL) 7. Juni 1977 (1977-06-07) das ganze Dokument	1-4
X	US 4 399 102 A (KARLBERG BO I ET AL) 16. August 1983 (1983-08-16) das ganze Dokument	1
A	EP 0 815 940 A (CALIPER TECHN CORP) 7. Januar 1998 (1998-01-07) das ganze Dokument	1
	-/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- * A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- * E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- * L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- * O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- * P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- * T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- * X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- * Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- * Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

6. November 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

13/11/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Vlassis, M

INTERNATIONALES RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/05501

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
A	<p>WO 99 25475 A (GROMAKOVSKAJA ELENA ;MIETHE PETER (DE); PLAKSINE DIMITRI (DE)) 27. Mai 1999 (1999-05-27) Seite 7, Zeile 32 -Seite 8, Zeile 21 Seite 12, Zeile 33 -Seite 14, Zeile 7 Anspruch 11; Abbildungen 11,12</p>	1

Formblatt PCT/ISA/210 (Fortsetzung von Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/05501

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0112327 A	22-02-2001	US 6524456 B1	25-02-2003
		AU 7758600 A	13-03-2001
		CA 2380614 A1	22-02-2001
		CN 1378485 T	06-11-2002
		EP 1202802 A1	08-05-2002
		JP 2003507162 T	25-02-2003
		WO 0112327 A1	22-02-2001
US 4028056 A	07-06-1977	AU 501596 B2	21-06-1979
		AU 2403977 A	12-10-1978
		BE 851998 A1	02-09-1977
		CA 1086660 A1	30-09-1980
		CH 615835 A5	29-02-1980
		DE 2716880 A1	03-11-1977
		FR 2348730 A1	18-11-1977
		GB 1574502 A	10-09-1980
		IT 1072750 B	10-04-1985
		JP 52130061 A	01-11-1977
		NL 7702255 A	24-10-1977
		SE 423680 B	24-05-1982
		SE 7704535 A	21-10-1977
		SU 784742 A3	30-11-1980
US 4399102 A	16-08-1983	SE 414872 B	25-08-1980
		DE 2842864 A1	12-04-1979
		FR 2407728 A1	01-06-1979
		GB 2007524 A ,B	23-05-1979
		JP 1004149 B	24-01-1989
		JP 1518399 C	07-09-1989
		JP 54064077 A	23-05-1979
		SE 7711016 A	04-04-1979
		US 4546088 A	08-10-1985
EP 0815940 A	07-01-1998	US 5779868 A	14-07-1998
		US 5880071 A	09-03-1999
		AU 726987 B2	30-11-2000
		AU 3501297 A	21-01-1998
		BR 9710052 A	11-01-2000
		CA 2258481 A1	08-01-1998
		CN 1228841 A	15-09-1999
		EP 0815940 A2	07-01-1998
		EP 0909385 A1	21-04-1999
		JP 3361530 B2	07-01-2003
		JP 2000514184 T	24-10-2000
		KR 2000022177 A	25-04-2000
		NZ 333345 A	29-09-2000
		NZ 504697 A	30-11-2001
		NZ 504698 A	30-11-2001
		TW 394843 B	21-06-2000
		US 5972187 A	26-10-1999
		US 6080295 A	27-06-2000
		WO 9800705 A1	08-01-1998
		US 6042709 A	28-03-2000
		US 6547942 B1	15-04-2003
		US 2003085126 A1	08-05-2003
		US 6287520 B1	11-09-2001
		US 2002017464 A1	14-02-2002
		US 5958203 A	28-09-1999

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/05501

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0815940 A		ZA 9705758 A	23-04-1998
WO 9925475 A	27-05-1999	AT 216637 T	15-05-2002
		AU 1874099 A	07-06-1999
		AU 1962399 A	07-06-1999
		DE 59803938 D1	29-05-2002
		WO 9925475 A1	27-05-1999
		WO 9926071 A1	27-05-1999
		EP 1032471 A1	06-09-2000
		EP 1032840 A1	06-09-2000
		US 2003039588 A1	27-02-2003
		US 6488894 B1	03-12-2002

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKewed/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)